

Application News

No. **A631**

光吸収分析

キャベツに含まれるクロロフィルa、bと カロテノイドの定量 - LabSolutions[™] UV-Visの評価機能の活用-

植物や野菜の色味は鮮度や品質を示す指標の1つとなります。この色味はクロロフィルやカロテノイド、フラボノイド、ベタレインという4種類の色素によって発現しますが、これら色素の含有量を評価する方法として、紫外可視分光光度計はよく利用されます。

本稿では、キャベツに含まれるクロロフィル a、b とカロ テノイドの含有量を紫外可視分光法により測定した結果を 報告します。加えて、当社紫外可視分光光度計の標準ソフト ウェアである LabSolutions UV-Vis のスペクトル評価機能を 活用して、複雑な計算式を用いた含有量の算出工程を効率的 に進める方法をご紹介します。

Y. Tange

■ クロロフィルとカロテノイド

クロロフィルは a、b、c、d、fの5種類が知られており、 a および b は野菜の葉や茎など緑色組織に多く含まれていま す。またクロロフィルは栄養状態や光環境、除草剤使用有無 により含有量が異なるため、野菜を管理するための重要な指 標となります。特に a と b の割合(a/b 比)は光合成の効率 を示す指標となり、強光環境で育った野菜の a/b 比は高くな ることが知られています¹⁾。

カロテノイドの種類は極めて多く、代表的なものとしては 人参のβ-カロテンやトマトのリコピンなどが有名です。カ ロテノイドには抗酸化作用があり、特に収穫後の野菜におい ては、カロテノイドが活性酸素の発生防止や酸化力を抑える 効果を発揮し、野菜が傷むことを防ぐことが知られています。 このカロテノイドを評価することにより、野菜の鮮度管理を 行うことができます。また、摂取した人へのアンチエイジン グ効果も期待されており、栄養学の観点からもその含有量は 重要です。

■ 前処理

光環境の異なる試料として、キャベツの1番外の葉(外葉) と3枚目の葉(内葉)からそれぞれ3ケ所ずつ(上部、中部、 下部)0.1gを切り出しました。切り出した葉片を液体窒素 と乳鉢で凍結粉砕し、20mlの80%アセトン(アセトン:超 純水=8:2)に加えて、3分間振とうすることで脂溶性物質 を抽出しました。測定にはこの上澄み液を用いました。試料 の外観を図1に示します。



■ クロロフィルとカロテノイドの定量

クロロフィルやカロテノイドの定量には、様々な式が活用 されています。今回は 80%アセトン抽出液の測定の中でも クロロフィルとカロテノイドを同時に算出できる Lichtenthaler & Welburn によって提案された以下の方法²⁾ を用いて定量を行いました。また測定条件は表1に示します。

$$Chl a = 12.21A_{663} - 2.81A_{645} \tag{1}$$

クロロフィルb;

$$Chl b = 20.13A_{645} - 5.03A_{663} \tag{2}$$

カロテノイド;

$$Carotenoids = \frac{1000A_{470} - 3.27[Chl a] - 104[Chl b]}{227} = 4.405A_{470} - 9.182A_{645} + 2.129A_{663} \quad (3)$$

Chl a, b:抽出液中のクロロフィル a、b 濃度 [μg/ml] *Carotenoids*:抽出液中のカロテノイド濃度 [μg/ml] *A_x*:xnm における吸光度値

	表 1 測定条件	
装置 測光値の種類 測定キャン速度 データ間隔 光源切替波長 スリット幅	:紫外可視分光光度計 :吸光度 :400~700 nm :高速 :0.1 nm :340 nm :1 nm	UV-1900i

スペクトル評価機能における評価テーブルの多項式の設 定方法の代表例として、カロテノイドの定量(上記の式(3)) における設定手順を図2に示します。

「多項式(下図②)」では、最大で十項の多項式を作成で きます(下図⑤)。また、一度設定した評価テーブルはテン プレートとして保存することができるため(下図⑧)、同じ 評価を繰り返し実施する場合には便利かつ効率的です。 さらに、テーブル設定の「その他」タブにある「測定後、 データを自動的に評価テーブルに追加する」にチェックを入 れておくと(下図⑨)、スペクトル測定後すぐに評価結果が テーブルに反映されます。取得済のスペクトルデータを後か ら評価テーブルに追加することもできますので、前回の測定 データと比較しながら評価することも可能です。



①テーブル設定の「追加」をクリック
②「測光値-多項式」を選択
③評価項目の名称を入力
④パラメータを設定するために「多項式の作成」をクリック

☑ 測定後、データを自動的に評価テーブルに追加する

コスペクトルデータファイルを開いたとき、自動的に評価テーブルに追加する

⑤項数のプルダウン(1~10)から項数を設定
⑥各項の「波長」をクリックして波長を入力
⑦各項の「係数1」をクリックして係数を入力
⑧各ウィンドウで「OK」し、評価テンプレートを保存

図2 評価テーブルにおける多項式の設定手順(①~⑧)と評価テーブルへの結果の自動反映設定(⑨)

		L&W's Chl a	L&W's Chi b	L&W's Carotenoids
	サンブル名	評価値	評価値	評価値
1	キャベツ外_上	2.57	0.53	0.85
2	キャベツ外_中	1.37	0.44	0.40
3	キャベツ外_下	0.15	0.06	0.05
4	キャベツ内上	0.87	0.24	0.26
5	キャベツ内_中	0.78	0.20	0.21
6	キャベツ内」下	0.09	0.07	0.03
7	80%アセトン	0.00	0.00	0.00

図3 評価結果の表示画面

■結果

評価テーブルで表示される評価結果を図3に示します。クロロフィルa、b含有量はともに外葉の上部で最も高く、内葉の下部で最も低くなりました。クロロフィルa/b比は外葉の上部では約4.9、内葉の下部で約1.3となり、先述した光環境に則した結果となりました。またカロテノイドの含有量については、強光環境である外葉上部では高く、内葉下部では低い傾向が見られました。

■まとめ

LabSolutions UV-Vis のスペクトル評価機能を活用して、吸 光度からクロロフィル a、b とカロテノイドの含有量を算出 し、光環境に則した結果が得られました。

スペクトル測定終了と同時に結果を確認できる上、換算式 をテンプレートとして保存できるので、作業効率の向上にも 役立ちます。

<参考文献>

1) 園池、光合成と光環境応答、蛋白質・核酸・酵素 Vol.53 No.9 (2008)
2) Lichtenthaler & Welburn, Biochem. Soc. Trans. 11: 591-592 (1983)

LabSolutions は、株式会社島津製作所の日本およびその他の国における商標です。



※本資料は発行時の情報に基づいて作成されており、予告なく改訂することがあります。 改訂版は下記の会員制 Web Solutions Navigator で閲覧できます。

https://solutions.shimadzu.co.jp/solnavi/solnavi.htm

会員制情報サービス「Shim-Solutions Club」にご登録ください。 https://solutions.shimadzu.co.jp/ 会員制 Web の閲覧だけでなく、いろいろな情報サービスが受けられます。